

Der DPH-Gehalt im Blut

Ursula Weigert-Chalkiadakis

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Der DPN-Gehalt im Blut

Untersuchungen an gesunden und kranken Personen
unter besonderer Berücksichtigung des Diabetes

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer
hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ursula Weigert-Chalkiadakis

aus München



MÜNCHEN 1959

5349/60.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Referent: Prof. Dr. K. Stuhlfauth

Korreferent: Prof. Dr. W. Seitz

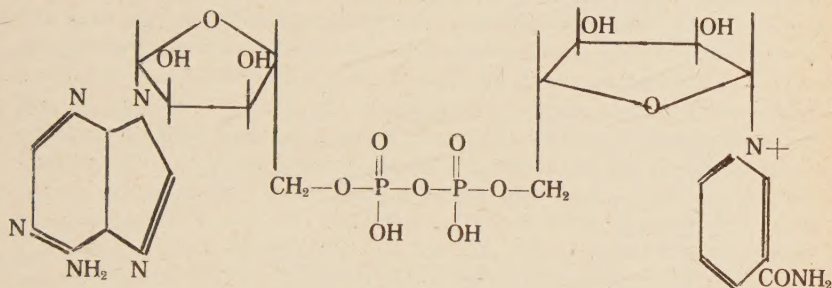
Dekan: Prof. Dr. H. Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung 5. 11. 59

EINLEITUNG

Thematische Grundlagen.

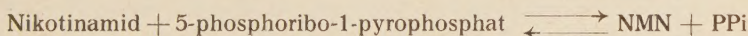
Die Existenz des Diphosphopyridinnukleotids (DPN), zunächst Cozymase, Coenzym I, Codehydrase I genannt, wurde zum erstenmal 1905 von Harden und Young nachgewiesen. Euler und R. Nilson entdeckten die Mitwirkung des Enzyms bei Dehydrierungsprozessen. 1936 wurde es von Euler und Schlenk isoliert. H.v. Euler und K. Myrbäck konnten die Adenylsäure, O. Warburg und Christian die Nikotinsäure als Bausteine des DPN aufzeigen. Heute wissen wir, daß DPN aus einem Mol Adenin, 1 Mol Nikotinsäureamid, 2 Mol Phosphorsäure und 2 Mol Ribose besteht. Seine Struktur entspricht (1)



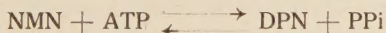
DPN-Synthese.

Das DPN wird im Zellkern in zwei Stufen gebildet:

1) Aus Nikotinamid und 5-phosphoribo-1-pyrophosphat wird Nikotinsäureamidmononukleotid (NMN), eine Verbindung aus Nikotinamid, Ribose und Phosphorsäure und anorganischer Phosphat PPi gebildet (2).



2) In der zweiten Stufe reagiert das Nikotinamidmononukleotid mit Adenosintriphosphorsäure (ATP) und bildet das DPN, ein Nikotinamidadenindinukleotid und anorganisches Phosphat (3)



Wenn DPN erneut mit einem Mol ATP reagiert, so entsteht das Triphosphopyridinnukleotid (TPN). Das ADP geht dabei in ATP über.

Das Enzym, das die zweite Reaktion katalysiert, ist die DPN- Pyrophosphorylase (5). Branster und Morton (6) fanden das gleiche Enzym in den Zellkernen der normalen und tumorösen Mamma der Maus. Es ist übrigens das einzige Enzym, das nur im Zellkern vorkommt. Die Pyrophosphorylase ist nach Untersuchungen von Baltus (7) vor allem in den Nukleolen lokalisiert.

siert. Das DPN wird später ins Cytoplasma transferiert (5), wo es hauptsächlich in den Mitochondrien und im löslichen Überstand gefunden wird (8). Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von Strength, Mondy und Daniel (9), die nach Verabreichung von Aminopterin, das bekanntlich die Synthese der Purine hemmt, auch bei dem purinhaltigen Coenzym I einen deutlichen Abfall in der Leber von Mäusen nachweisen konnten.

Aufbau und Wirkungsweise der Dehydrogenasen.

Wie schon erwähnt, fungiert das DPN als Coferment verschiedener Dehydrogenasen, indem es den Wasserstoff des zu dehydrierenden Substrates aufnimmt und selbst in die Dihydro-Co-Dehydrogenase ($\text{DPNH} + \text{H}^+$) übergeht. Die Codehydrogenase wirkt nur in Verbindung mit einem spezifischen Protein, dem Apoenzym, das die Substratspezifität bedingt. Die Apofermente enthalten wiederum eine bestimmte, beschränkte Zahl von Stellen, die je ein Mol DPN binden können. Meistens sind es zwei solcher Stellen, z. B. bei der Milchsäuredehydrogenase, Äpfelsäuredehydrogenase Glutaminsäuredehydrogenase; bei der Alkoholdehydrogenase (ADH) aus Hefe werden 4 Moleküle DPN an ein Molekül des Apofermentes gebunden (10). Diese Bindung erfolgt am Pyridinium-N-Ion und an der Adenin-Aminogruppe durch Sulfhydrylgruppen, an der Pyrophosphatgruppe durch Zink an das Protein (11). Die Koinzidenz von 4 Zinkatomen pro Molekül ADH (12) und den 4 Molekülen DPN pro Molekül dieses Enzymes (13,14) unterstützen diese Annahme. Diese Zinkatome des Apofermentes wirken auch als Koordinationszentren bei der Bildung des Apoenzym-Coenzym-Substrat-Komplexes. Hier liegt nach Untersuchungen von Wallenfels und Sund (15) der therapeutische Angriffspunkt des Butazolidins, das in der Lage ist, mit Zink ebenfalls Komplexe zu bilden und so die freien Koordinationsstellen am Enzymzink zu besetzen, durch welche das Coenzym und das Substrat während des katalytischen Vorganges gebunden werden. Auf einer ähnlichen Komplexbildung mit Zink soll die Wirkung des Thyroxins auf die Dehydrogenase beruhen (16, 17).

Jede Dehydrogenase braucht zwei Moleküle DPN zur Oxydation von einem Molekül Substrat. Das erste DPN fungiert als Substrat-Acceptor, indem es dieses in para-Stellung bindet. Das zweite DPN wirkt als H-Acceptor des gebundenen Substrates und nimmt den Wasserstoff ebenfalls in para-Stellung auf (9, 18). Die Oxydation-Reduktion findet also nicht in ortho-Stellung des Pyridinringes statt, wie Karrer vermutet hatte (19).

Ferner hat man eine Stereospezifität im Nikotinamidring des DPN für den Wasserstofftransport gefunden. Die Seite der H^+ -Bindung bei der ADH wurde mit alpha, die entgegengesetzte mit beta bezeichnet. Levy und Venesland (20) konnten jedoch eine Korrelation weder mit den chemischen Eigenschaften, noch der Struktur des Substrates noch mit der Dissoziationskonstanten des Enzym-DPN oder Enzym-Substrat-Komplexes nachweisen.

Die Bindungsfähigkeit des Proteins für die oxydierte und reduzierte Form des Coenzyms ist verschieden (10), so daß die Werte der Michaeliskonstante (mol/l bei 26° und $\text{pH } 7,6$) nicht immer mit der wahren Dissoziationskonstanten identisch sind; z. B. ist es interessant, daß das „oxydierende“ Gärungsferment (Triosephosphatdehydrase) das DPN viel fester bindet als das $\text{DPNH} + \text{H}^+$ und umgekehrt das „reduzierende“ Enzym (Alkoholdehydrase). So würde nach den Werten der Michaeliskonstante die Dissimilation der Kohlehydrate ihre Synthese überwiegen (20).

Im allgemeinen hat jeder Stoffwechselprozess ein oder mehrere spezifische Proteine als Apoferment. Wieland und Pfleiderer (21) fanden z. B. 5 verschiedene Milchsäuredehydrasen in der Rattenleber. Diese werden schon in den Mikrosomen verschieden synthetisiert (22). Die gleichen Autoren haben auch im Serum eines Patienten mit einem Herzinfarkt 4 verschiedene, im Herzmuskel vorkommende Milchsäuredehydrasen gefunden, die im normalen Serum nicht nachweisbar sind.

Andererseits fand man in ganz verschiedenen Organen und bei verschiedenen Species eine sehr ähnliche Aminosäurezusammensetzung des Apoferments, z. B. bei der Milchsäuredehydrase des Rattenmuskels und des Ratten-Jensen-Sarkoms, oder der Triosephosphatdehydrase aus Hefe und Kaninchenmuskel.

Die Co-Dehydrasen sind meist nur locker an das Protein des Apofermentes gebunden, so daß sie hintereinander verschiedene Substrate oxydieren und reduzieren können. Die Co-Dehydrase pendelt dabei von einem Apoenzym zum anderen. Das bekannteste Beispiel für eine solche Oxydo-Reduktion ist die Dehydrierung von Triosephosphat und die Hydrierung von Brenztraubensäure bei der Glykolyse. Nur in den Mitochondrien scheint sie zusammen mit dem Apoenzym an festere Strukturen gebunden zu sein.

Auch körperfremde Substanzen können einmal eine größere Affinität zum Apoenzym-Coenzym-Komplex haben als das dazu gehörige Substrat, wie dies beim Antabus der Fall ist und auch praktisch ausgenützt wird. Durch seine 350mal größere Affinität zur Aldehyddehydrase verdrängt es deren Substrat und bewirkt dadurch eine Hemmung des Abbaus des bei der Alkoholdehydrierung anfallenden Acetaldehyds. Der daraus resultierende hohe Acetaldehydspiegel im Blut verursacht die subjektiv sehr unangenehmen Reaktionen von seiten des Kreislaufs und der Atmung (23).

Die Pyridinnukleotide sind sehr wichtig bei der Dehydrierung der Spaltprodukte des Kohlehydratstoffwechsels (Glukosedehydrase, Milchsäuredehydrase, Äpfelsäuredehydrase, Glutaminsäuredehydrase, Alkoholdehydrase etc.); sie wirken aber auch beim Abbau der Sterine wie Testosteron (24,25), Östradiol (26) und Cortison mit. So konnte Hiller (27) zeigen, daß die entzündungshemmende Wirkung von Amidopyrin und Irgapyrin und

die klinisch beobachtete cortinsonsparende Wirkung dieser Pharmaca letztlich auf einer Hemmung der Steroiddehydrierung beruht, die dem Organismus durch die geringeren Abbauraten bei normaler Cortisonproduktion zu einem höheren Cortisonspiegel verhilft.

Wechselwirkung von ATP und DPN.

Wie schon eingangs erwähnt, wird bei der Synthese des DPN und seiner weiteren Phosphorylierung zu TPN im Zellkern ATP benötigt. Andererseits stammt die aerobe Bildung von ATP im Cytoplasma tierischer Gewebe zum großen Teil von der Oxydation des reduzierten DPN und TPN (28). Daher sind letztlich fast alle synthetischen Reaktionen (einschließlich der Eiweißsynthese), die direkt oder indirekt ATP benötigen, DPN-abhängig.

Vitamin als Vorstufe des DPN.

Aus dieser Vielfalt an Aufgaben muß man die Vitaminwirkung des DPN-Bestandteils Nikotinsäure verstehen. Zwar kann noch das *Chilomonas-Paramcium* seinen Nikotinsäurebedarf aus Acetat und Ammoniak selbst synthetisieren, aber schon viele Bakterien und die höheren Tiere sind außerstande, den Pyridinkern selbst aufzubauen. Feigelson, Williams und Elvehjem (29,30) haben die Bildung von Nikotinsäure in der Leber von Ratten aus Tryptophan festgestellt. Fisher und Mitarbeiter (31) haben es beim Küken, Duncan und Sarrett (32) für menschliche Erythrozyten bestätigt, so daß man das Tryptophan schon als Provitamin bezeichnet hat (33). Der Überschuß an gebildeter Nikotinsäure wird methyliert, aber nicht, wie bisher allgemein angenommen, als Trigonellin, sondern es wird zu 80% als N_1 — Methylnikotinsäureamid ausgeschieden (34).

DPN-Abbau.

Das DPN wird in intakten Zellen langsam, in zerstörten Zellen und in hämolysierten Erythrozyten sehr rasch fermentativ abgebaut (35). Am schnellsten laufen diese Reaktionen im Gehirn und in den Erythrozyten ab. Im Gehirn ist diese Reaktionsgeschwindigkeit größer als die Gewebsatmung.

Mann und Quastel (36) fanden eine Nukleosidase, die das DPN durch nukleosidische Spaltung an der Nikotinsäureamid-Ribose-Bindung sprengt (37). In Erythrozyten konnte Hofmann (38) spezifische DPN — und TPNasen nachweisen und isolieren. Die Spaltung durch diese Enzyme ist durch Nikotinsäureamid kompetitiv hemmbar. Kornberg und Lindberg (39) fanden daneben eine durch NSA nicht hemmbare Pyrophosphatase, die das DPN in Adenylsäure und Nikotinsäureamidmononukleotid (NMN) spaltet. In einigen Geweben herrscht die Nukleosidase in anderen die Pyrophosphatase vor (39, 40, 41, 42, 43, 44).

Sung und Williams (45) fanden bei ihren Untersuchungen über die DPNase in Zellfraktionen der Rattenleber das Enzym im Zellkern, den Mitochondrien und dem Überstand diffus verteilt. In den Mitochondrien, dem Ort wichtiger oxydativer Prozesse, scheint die DPNase zu fehlen, so daß das Coenzym der Zerstörung hier nicht ausgesetzt ist. Alivisatos u. Denstedt (46) berichten speziell für die Erythrozyten, daß die DPN-spaltenden Enzyme an die unlöslichen abzentrifugierbaren Partikel des Stromas gebunden sind. Sie sitzen angeblich an der Oberfläche der Zellen, da zugesetztes DPN nicht in sie eindringen kann, sondern schon beim Kontakt mit der Zelloberfläche zerstört wird. Im Blutplasma ist keine DPNase enthalten. Auf einer raschen fermentativen Zerstörung des Coenzym DPN der Milchsäuredehydrogenase, wahrscheinlich einer Nukleosidase, beruht nach Mann und Quastel (36) die Wirkung des Kobragiftes und des Giftes der schwarzen Tigerschlange (*Notechis scutatus*). Neueste Untersuchungen von Aravindakshan und Braganca (47) haben allerdings gezeigt, daß es dabei zu einer Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung des Pyruvats im Gehirn und in der Leber der Maus kommt.

Nach diesem, wenn auch unvollständigen Überblick, der die zentrale Stellung des DPN im Stoffwechsel aufzeigen soll, wollen wir die Befunde und Überlegungen mitteilen, die unseren Untersuchungen zugrunde liegen.

Thematische Grundlagen.

Die Untersuchungen über die Aktivität verschiedener Fermentsysteme im Blut und den Geweben haben interessante Einblicke in die Funktionsweise dieser Organe gestattet und bei bestimmten pathologischen Prozessen charakteristische Veränderungen ergeben. Es sind z. B. schon seit langem die Vermehrung der alkalischen Serumphosphate bei osteogenen Sarkomen und der sauren Serumphosphatase beim Prostata-Carcinom bekannt. Warburg und Christian (48) fanden die Serumaldolase bei tumortragenden Mäusen erhöht, konnten dies aber nur in 20% bei Menschen mit malignen Geschwülsten nachweisen.

Wir gingen bei unseren Untersuchungen von den Feststellungen verschiedener Forscher aus, die eine Änderung der Coenzym-Konzentration bei krankhaften Prozessen in den verschiedenen Geweben gefunden hatten. Prosiegel (49) und Dianzani (50) stellten eine beträchtliche Verminderung, vor allem der hydrierten Form des DPN in der tetrachlorkohlenstoffgeschädigten Leber der Ratte fest. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Frunder (51) bei seinen Untersuchungen an Mäuselebern. In der Leber alloxandiabetischer und hungernder Ratten fanden Holzer und Mitarbeiter (52) einen Abfall des DPN um 16% und des DPNH um 56%. Greenbaum und Graymore (53) stellten im Einklang damit fest, daß Insulin sowohl die

DPN- als auch die DPNH-Konzentration in normalen wie auch in diabetischen Rattenlebern erhöht. Andererseits kann der durch Diabetes verursachte tiefe Abfall des DPNH innerhalb einer Stunde durch Gaben von Wachstumshormon vollkommen aufgehoben werden (53). Auch Glock und Mc Lean (54) fanden bei Alloxandiabetes und nach Herstellung einer experimentellen Thyreotoxikose durch Thyroxingaben erniedrigte Werte für Pyridinnukleotide, die jedoch nach Gaben von kristallisiertem Wachstumshormon wieder auf die Norm anstiegen. Bernheim und Felsovanyi (55), Kensler und Mitarbeiter (56), und Jedeikin und Weinhouse (57) und früher schon Euler fanden in Tumoren niedrigere Werte des DPN als im normalen Gewebe. Es lag also die Annahme nahe, daß im Stoffwechsel von Tumoren eine Störung der DPN-abhängigen Enzymsysteme kennzeichnend ist. Ähnliche Beobachtungen machten Branster und Morton (6) am ebenfalls schnellwachsenden embryonalen Gewebe, so daß sie in Analogie dazu die Gabe von DPN zur Verlangsamung der Zellteilung bei Tumoren erwogen. Oide (58) zeigte, daß bei teilweise hepatektomierten Ratten der Pyridinnukleotidgehalt nach Gaben von Nikotinamid ansteigt; gleichzeitig wird die Zahl der Mitosen in der regenerierenden Leber stark reduziert. Morton (59) hat darauf eine Theorie über das maligne Zellwachstum aufgebaut.

Govier (60) fand bei Ischämie des Herzmuskels durch Ligatur der Coronararterie beim Hund erheblich erniedrigte DPN-Werte. Duspiva und Franken (61) dagegen fanden solange keinen Abfall der Gesamtpyridinnukleotid-Werte in der Leber und im Herzmuskel des Meerschweinchens noch eine Änderung des Quotienten oxyd./reduz. DPN, als die kurzfristige akute Hypoxie keine irreversiblen morphologischen Strukturveränderungen hinterließ. Galeoni und Mitarbeiter (62) nehmen auch für ihre Ergebnisse bei Herzpatienten mit Stauung und ausgesprochener Cyanose eine Störung der KH-Stoffwechselermente, in diesem speziellen Falle eine Aktivierung der DPNase, hervorgerufen durch die Anoxie, an. Auch in den meisten oben angeführten Fällen wird ein vermehrter und beschleunigter Abbau des Coenzyms I oder II angenommen. Wenner und Weinhouse (63) z. B. nehmen an, daß das Coenzym in den Mitochondrien tumoröser Zellen nicht so fest verankert ist und dadurch in hohem Maße der im Cytoplasma in erheblicher Konzentration vorhandenen DPNase zum Opfer fällt. Branster und Morton (6) glauben dagegen an eine verminderte Neubildung, wie aufgrund ihrer Untersuchungen über die DPN-Pyrophosphorylaseaktivität in den Zellkernen von normalem und tumorösem Gewebe hervorgeht. Durch Gaben von Reserpin und Chlorpromazin mit Nikotinamid konnten Burton und Mitarbeiter (4) einen längerdauernden Anstieg des DPN-Spiegels weit über die Norm in der Leber von Mäusen erzielen. Sie vermuten daher einen Zusammenhang der Wirkungsweise dieser „Tranquilizer“ mit der DPN-Synthese.

Themastellung

Wir nun haben untersucht, ob eine Korrelation zwischen den tierexperimentell, vor allem an der Leber gefundenen Änderungen des DPN-DPNH-Systemes, und den DPN-DPNH-Werten im menschlichen Blut bei verschiedenen Stoffwechselsituationen, unter besonderer Berücksichtigung des Diabetes besteht.

Material und Methode

Unter den insgesamt 65 untersuchten Personen befinden sich 20 Diabetiker, die bei verschieden hohem Blutzuckerspiegel, z. T. auch an mehreren Tagen, auf ihren Blut-DPN-Gehalt kontrolliert wurden. Die übrigen bilden zwei Gruppen: 19 klinisch gesunde Kontrollpersonen und 26 Patienten mit verschiedenen anderen Stoffwechselstörungen und pathologischen Zuständen.

Zur Bestimmung des DPN wurde die von Holzer et alii (52) ausgearbeitete Methode angewandt. Sie beruht auf folgender Reaktion:



Da das Ausmaß der Alkoholoxydation im Test durch die Konzentration an DPN, die Rückreaktion aber durch das im Test vorhandene DPNH, begrenzt ist, erlaubt diese Reaktion sowohl die Bestimmung der oxydierten wie auch der reduzierten Form des Coferments. Die getrennte Bestimmung wird durch das unterschiedliche Verhalten von DPN und DPNH gegenüber Säuren und Laugen ermöglicht. Zur Bestimmung des oxydierten DPN wird DPNH durch Säuren zerstört. Eine quantitative Bestimmung des DPN ist möglich, wenn das Gleichgewicht Äthanol/Acetaldehyd voll nach rechts verschoben wird. Dies geschieht durch einen Überschuß an Äthanol einerseits und ein Abfangen des gebildeten Acetaldehyds andererseits mit Hilfe von Semicarbacid. Die Reaktion wird beim optischen Test mit Alkoholdehydrogenase (ADH) gestartet.

Bei der DPNH-Bestimmung wird das DPN durch Laugen momentan zerstört. Die quantitative DPNH-Bestimmung ist möglich, wenn das Gleichgewicht völlig nach links verschoben ist, was durch einen Überschuß an Acetaldehyd bewirkt wird. Die Reaktion ist streng spezifisch, da sie das in Zellen und Geweben ebenfalls vorhandene Triphosphopyridinnukleotid (TPN) nicht mit-erfaßt.

Wir haben geprüft, ob die von Holzer und Mitarbeitern für Hefe und Leber angegebenen optimalen Bedingungen auch für Blut zutreffen.

a) pH-Optimum:

Bei einem pH von 7,4 – 7,6 laufen beide Tests in spätestens 3 Minuten ab, während bei einem pH unter 7,0 durch Ausfällung von ADH Trübungen auftreten, die die Reaktion stören und im Spektrophotometer falsche Ablesewerte verursachen.

b) Aufschlußbedingungen:

DPN: Zum Aufschluß der Zellelemente im Blut, in denen die Cofermente enthalten sind, (wie Alivisatos und Denstedt (46), Levitas und Robinson (64) und auch wir selbst festgestellt haben sind im Blutserum keine vorhanden), war bei der Bestimmung des DPN eine Endkonzentration von 5%iger Trichloressigsäure (TCE), erforderlich. Es wurden Versuche mit 1%iger, 2%iger, 3%iger, 5%iger, 10%iger, 20%iger und 50%iger Trichloessigsäure angestellt. Bei dieser 5%igen Konzentration wird wie bei der Hefe die größte DPN-Ausbeute gefunden. Die Eiweißfällung ist vollständig, man erhält ein klares Filtrat.

DPNH: Im Gegensatz zur Leber und Hefe läßt sich bei Anwendung von heißer NaOH zum Aufschließen, und gesättigter KH_2PO_4 zur nachfolgenden Neutralisation für Blut eine vollständige Eiweißfällung nicht erreichen. Anwendung starker Säuren, wie sie gewöhnlich für die Enteiweißung verwendet werden, ist hier nicht möglich, da sie das DPNH sehr rasch zerstören. Versuche mit CuSO_4 und Kalkmilch gelangen nicht, sondern ergaben einen dicken grünbraunen Brei. Wir erhielten dann mit 10%iger ZnSO_4 -Lösung, von der wir 5 ccm mit 10 ccm ges. Ba(OH)_2 -Lösung neutralisierten, ein klares Filtrat. Das gleiche Ergebnis hatten wir bei Anwendung von ZnSO_4 und NaOH. Bei den weiteren Untersuchungen ergab sich jedoch, daß durch die hohe Ionenkonzentration im Test die Fermentreaktion erheblich verzögert wird und ein Teil der zugesetzten ADH ausfällt. Wir haben deshalb unsere Untersuchungen auf die Bestimmung des oxydierten Coenzym beschränkt, und auf weitere Ausarbeitung des Tests verzichtet.

c) Inaktivierung der Fermente:

Da die Zellfermente das Gleichgewicht des DPN schnell zugunsten des DPNH verschieben oder es zerstören, müssen sie rasch durch Säure inaktiviert werden. Wir haben deshalb eine Zeitspanne bis zu 15 Sekunden zwischen Blutentnahme und Aufschluß nicht überschritten.

d) Stabilität:

Holzer und Mitarbeiter, Frunder und Mitarbeiter (65) wiesen nach, daß der DPN-Gehalt bei Zimmertemperatur verhältnismäßig rasch abnimmt. Bei 0° können jedoch neutralisierte TCE-Filtrate bis zu 24 Std. ohne wesentliche Abnahme des DPN-Gehaltes aufbewahrt werden.

Bei der DPN-Bestimmung gingen wir folgendermaßen vor:

10 ml Blut wurden vom vorher mindestens 15 Minuten ruhenden Patienten entnommen und sofort mit 10 ml 10%iger Trichloressigsäure (TCE) versetzt. Ein Homogenisieren erwies sich als überflüssig. Gründliches Durchmischen mit einem Glasstab genügte. Das ständig in einem Eisbad befindliche Gemisch (die Reagenzgläser mit TCE wurden bereits darin vorgekühlt) wurde anschließend in der Kältezentrifuge bei 15000 R/min zentrifugiert und in graduierte Meßzylinder filtriert.

Für den optischen Test benutzten wir:

Filtrat		4,0	ml
ges. NaPO ₄ -Lösg.			
bis pH 7,4	ungefähr	0,9	ml
Aqua dest.	ad	5,0	ml
Semicarbacid / Alkohol		0,8	ml
Start mit ADH		0,001	ml

Wir hatten meistens genügend Filtrat um Doppelbestimmungen durchführen zu können. Das Prinzip des optischen Tests von Nikotinamid-Coenzymen nach Warburg und Christian (66) besteht darin, daß bei der Reduktion zu ihren Dihydroderivaten ein Absorptionsband im UV-Licht erscheint, dessen Maximum bei 340 m μ liegt und dessen Intensität proportional der Menge des vorhandenen Dihydrocoenzyms ist.

Als Nullwert wurde die Extinktion sofort nach Zugabe der ADH genommen. Es wurde in Abständen von einer Minute abgelesen. Die Reaktion war nach 3, höchstens 5 Minuten abgelaufen. Eine wesentliche Änderung des Wertes wurde bei Ablesung nach 30, 60 und 120 Minuten nicht bemerkt. Der optische Test wurde an einem Eppendorf Photometer durchgeführt.

Berechnung:

Nach Warburg ergeben 100 Gamma DPN im ml der Küvette eine Extinktion von 520. Die Berechnung wird daher folgendermaßen angestellt:

$$\frac{DS \times 100 \times \text{ges. Test}}{520 \times \text{Vol F i Test}} = \text{gamma DPN ml F}$$

Wobei DS die gefundene Extinktion

Vol ges. Test = Gesamtvolumen des Tests,

Vol F i Test = Volumen Filtrat im Test bedeutet.

Wir haben in Übereinstimmung mit anderen Autoren die DPN-Konzentration auf den ml Blut umgerechnet:

$$\text{gamma DPN ml Filtrat} \div \text{Vol Gesamtfiltrat} = \text{gamma DPN im Gesamtfiltrat}$$

Die jeweilige Ausbeute an Filtrat wurde gemessen. Wir haben auch durch mehrmaliges Aufschwemmen des Rückstandes mit Puffergemisch und anschließender photometrischer Untersuchung nachgewiesen, daß tatsächlich kein DPN mehr darin enthalten war. So entspricht der DPN-Gehalt des Gesamtfiltrats dem DPN-Gehalt von 10 ml Blut, $\frac{1}{10}$ davon dem Gehalt in einem ml Blut. Der Hämatokrit wurde immer mitbestimmt, so daß wir den, vor allem bei pathologischen Fällen, z. B. mit Begleitanämien, zuverlässigeren Wert pro ml Erythrozyten berechnen konnten. Wie schon oben erwähnt, entspricht die Menge DPN im Gesamtfiltrat dem Gehalt von 10 ml Blut. Wir rechneten dann auf den ml Erythrozyten in folgender Weise um:

$$\frac{\text{gamma DPN ges. F} \times \text{Hämatokrit}}{10 \times 100} = \text{gamma DPN / ml Ery}$$

Bei Kontrollversuchen mit zugefügten DPN fanden wir eine Wiederausbeute von 98%.

Die Streuung s wurde nach der Formel $s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left[\sum (x - \bar{x})^2 \right]}$ berechnet.

Tab. I
Normalpersonen

Nr.	Alter	Geschlecht	Hämatokrit	D P N	
				γ , ml Blut	γ , ml Ery
1	54	w	44	16,5	37,6
2	22	w	44	17,0	38,8
3	23	w	43	12,8	29,9
4	28	m	46	14,4	31,4
5	34	m	42	16,8	40,0
6	50	m	41	10,2	25,0
7	51	m	43	10,7	25,0
8	27	m	44	13,4	30,5
9	21	m	42	12,6	30,0
10	38	w	36	9,9	27,7
11	48	m	43	14,4	33,6
12	45	m	43	8,1	18,9
13	29	m	43	13,0	30,4
14	31	m	42	12,2	29,1
15	27	m	43	14,3	33,3
16	25	w	41	12,7	31,6
17	18	w	44	16,0	36,4
18	32	w	39	14,5	37,2
19	23	m	41	11,8	29,0

$$\begin{aligned} m &= 13,2 & M &= 31,3 \\ s &= \pm 2,44 & s &= \pm 5,43 \\ s^2 &= 5,98 & s^2 &= 29,53 \end{aligned}$$

Tab. II
Pathologische Fälle

Nr.	Diagnose	Hämatokrit	D P N	
			γ /ml Blut	γ /ml Ery
1	Dekompens. Vitium	28	9,9	35,6
2	Dekompensiertes V.	41	21,0	51,3
3	Endokarditis	38	17,0	44,9
4	Myocarditis	39	14,2	36,6
5	Bronchiektasen	46	13,0	28,2
6	Pleuritis sicca	35	14,2	40,6
7	Cystitis, Polyarthr.	30	12,9	43,6
8	Angina Plaut-Vincent	40	18,4	46,0
9	Lungen-Carcinom	39	12,8	33,0
10	Hypopharynx-Ca	43	9,7	22,6
11	Larynx-Ca	41	22,5	55,1
12	Magen-Ca	43	12,7	29,6
13	Prostata-Hypertroph. Hepatopathie	44	13,2	30,0
14	Serumhepatitis Lungenfibrose	47	14,1	32,2
15	Lebercirrhose	38	12,0	31,8
16	Lebercirrhose	35	16,3	46,6
17	Lebercirrhose	40	9,8	24,5
18	Fettsucht	41	12,3	30,0
19	Myxödem	42	15,7	37,5
20	Erb'sche Muskeldystroph.	40	18,6	46,6
21	Hypertonus	52	15,2	29,3

$$\begin{array}{rcl}
 m = & & 14,5 \quad M = 36,9 \\
 S = & + & 3,34 \quad s = \pm 9,05 \\
 s^2 = & & 11,10 \quad s^2 = 81,92
 \end{array}$$

Blutkrankheiten

1	Polycythämie	49	17,2	35,1
2	Polycythämie	50	17,1	34,3
3	chron. Myelose	18 Leuko 176000	19,7	54,0
4	chron. Myelose	29 Leuko 160000	10,5	36,4
5	chron. Myelose	39 Leuko 42000	19,9	51,1

Tab. III
D i a b e t i k e r

Nr.	Blutzucker in mg % ₁₀	Hämatokrit	D P N	
			γ/ml Blut	γ/ml Ery
1	55	35	13,9	39,8
	231		10,7	30,0
	385		9,7	27,7
	400		10,2	29,0
	136		13,6	38,2
	171		12,3	35,3
2	159	42	13,6	32,5
	176		12,8	30,7
	159		14,4	34,4
	132		10,5	25,0
	166		16,3	38,8
3	169	38	14,4	38,0
	210		11,9	31,1
	183		14,9	39,4
	268		12,6	33,2
4	214	41	14,4	35,2
	175		13,9	33,9
	166		11,5	28,2
5	259	40	10,7	26,9
	241		14,9	37,5
	117		11,3	28,2
6	318	43	13,4	31,2
	179		11,3	26,3
7	220	39	11,5	29,6
8	136	38	11,0	29,0
9	280	40	19,1	47,9
10	239	35	15,2	43,5
11	171	33	15,4	46,6
12	230	41	11,3	27,7
13	142	39	13,0	33,3
14	260	39	12,2	31,3
15	224	43	14,5	33,7
16	260	39	9,5	24,5
17	370	40	19,6	49,0
18	235	41	16,0	39,0
19	203	27	6,6	24,6
20	313	41	15,4	37,6

$$\begin{array}{rcl}
 m & = & 13,0 \quad M = 33,9 \\
 s & + & 2,6 \quad s = + 6,4 \\
 s^2 & = & 6,76s^2 = 41,9
 \end{array}$$

Ergebnisse

Wir haben nach der angegebenen Methode das Blut von 19 Normalpersonen verschiedenen Alters auf seinen DPN Gehalt untersucht (siehe Tabelle I.). Es handelt sich z. T. um Kollegen oder poliklinische Patienten, die völlig gesund waren und keinerlei pathologische Befunde boten. Im Vollblut ergab sich ein Mittelwert $m = 13,2$ gamma DPN / ml Blut und eine Streuung $s = \pm 2,44$. Pro ml Erythrozyten berechnet lag der Mittelwert $M = 31,3$ gamma DPN/ml Ery, mit einer Streuung $s = \pm 5,43$.

Weder das Alter noch das Geschlecht der Probanden hatten einen auffälligen Einfluß auf die Werte.

Bei den pathologischen Fällen haben wir Kranke sowohl mit entzündlichen Erscheinungen als auch mit malignen Tumoren und vor allem solche mit den verschiedensten Stoffwechselstörungen berücksichtigt. Sie stammen zum größten Teil aus dem stationären Krankengut der Poliklinik. Die Werte der Patienten mit Blutkrankheiten (Tab. II) wurden gesondert aufgeführt. Das Blut dieser Patienten haben uns dankenswerter Weise Herr OA. Dr. Marx und Dr. Zühlke aus der I. Med. Universitätsklinik überlassen.

Die Diabetiker (Tab. III) wurden alle einmal nüchtern untersucht. Bei jeder Untersuchung wurde gleichzeitig der Blutzucker bestimmt. Bei mehreren stationären Fällen haben wir die Untersuchungen an verschiedenen Tagen jeweils um die gleiche Zeit durchgeführt (Tab. III Nr. 2, 4 und 5). Die Patienten 1, 3 und 6 wurden zu verschiedenen Zeiten im Verlauf eines Tages bei verschieden hohem Blutzuckerspiegel untersucht. Patient Nr. 1 kam sowohl im hypoglykämischen (Blutzucker 55 mg %) als auch im diabetischen Koma (Blutzucker über 400 mg %) zur Untersuchung.

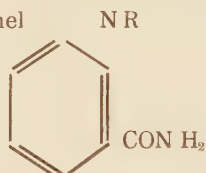
Die meisten dieser Patienten wurden mit Insulin behandelt. Die Patienten Nr. 10, 13 und 20 waren zur Zeit der Untersuchung nur durch Diät eingestellt. Außer der Patientin im diabetischen Koma hatte keiner der Untersuchten eine Ketonurie.

Bei den Diabetikern fanden wir einen Mittelwert von $m = 13,0$ gamma DPN/ml Blut und eine Streuung $s = \pm 2,6$ und $M = 33,9$ gamma DPN/ml Erythrozyten und eine Streuung von $s = \pm 6,4$ (siehe auch Tabelle III).

Besprechung und Ergebnisse

Es gibt nur sehr wenige Angaben in der Literatur über Normalwerte von DPN im menschlichen Blut. Die ersten derartigen Untersuchungen von Levitas et alii (64) sind mit der von ihnen entwickelten fluorometrischen Methode durchgeführt, die jedoch den totalen Pyridinnukleotidgehalt mißt, d. h. DPN

und TPN, die oxydierte sowie die reduzierte Form zusammen. Sie fanden im Vollblut bei 20 untersuchten Normalpersonen einen Mittelwert von 36 ± 5 gamma PN/ml Blut; auf das Erythrozytenvolumen umgerechnet 77 ± 8 gamma PN/ml Erythrozyten. Marley und Storvick (67) fanden mit der gleichen Methode, allerdings nur an 4 Personen, ähnliche Werte von 34 gamma DPN / ml Blut und 75,9 gamma DPN / ml Erythrozyten. Vilter und Mitarbeiter (68) haben an einer Reihe von 50 gesunden Personen mit einer biologischen Methode ähnliche Werte erhalten. Kohn, Bernheim und Felsovanyi (69) und Hoagland und Ward (70) fanden mit der Methode, die auf der wachstumsfördernden Wirkung von Co I und Co II für Kulturen von *Hemophilus influenzae* und *Hemophilus parainfluenzae* beruht, Werte, die zwischen 50—90 gamma PN / ml Erythrozyten schwanken. Die Kulturdichte der Bakterien ist direkt proportional der Menge der anwesenden Pyridiniumkomponenten. Auch hier wurde also der Totalpyridingehalt bestimmt. Einzig in der Untersuchung von Galeoni und Mitarbeitern (62) werden die oxydierten Pyridinnukleotide, also DPN und TPN getrennt von den reduzierten nach einer abgeänderten Fluoreszenzmethode von Robinson bestimmt. Sie fanden bei ihren 12 untersuchten Normalpersonen einen Mittelwert von 17 gamma oxyd. DPN / ml Blut. Die Autoren sind sich klar darüber, daß sie außer dem DPN und TPN auch alle Stoffe mit der Formel



z. B. N¹ — methylnikotinsäureamid,

mitbestimmen, die jedoch nur in sehr kleinen Mengen im Blut vorkommen. Da das Verhältnis von DPN zu TPN im Blut nach Schlenck (71) und Glock und Mc Lean (72) 8:1 beträgt, würde sich hier für das oxydierte DPN allein ein Wert von ungefähr 15 gamma / ml Blut ergeben. Dieser liegt sehr nahe unserem Mittelwert und noch durchaus innerhalb der Fehlerbreite.

Bei unseren Normalpersonen hatte weder das Alter noch das Geschlecht irgendeinen bemerkenswerten Einfluß auf die DPN-Werte. Es zeigte sich eine große Variationsbreite von extrem

8,1 — 17,0 gamma DPN / ml Vollblut und
18,9 — 40,0 gamma DPN / ml Erythrozyten.

95% der gefundenen Werte liegen jedoch im Normalbereich.

Bei zwei Patienten mit dekompensierten Herzviti (Tabelle II, Nr. 1 und 2) fanden wir normale, d. h. eher erhöhte Werte, im Gegensatz zu den Mitteilungen von Galeoni (62), der bei 13 Herzpatienten mit Stauungen und auffallend schwerer Cyanose die Cozymase im Blut erniedrigt fand. Wie schon eingangs erwähnt, führen die Autoren die Verminderung des Coenzym auf einen erhöhten Abbau durch die DPNase zurück. Durch den Man-

gel an DPN, das auch das Coenzym der Milchsäuredehydrase ist, kommt es zu einem Zusammenbruch des Milchsäurestoffwechsels. Da das Laktat einer der Hauptenergielieferanten des Herzmuskels ist, muß es im Mangelzustand zu einer Schädigung des Herzmuskels kommen. Tatsächlich sind auch bei einer länger dauernden Hypoxie des Herzmuskels durch Ligatur der Coronararterie beim Hund erstaunlich ähnliche EKG-Veränderungen nachweisbar, wie sie bei Nikotinsäuremangel auftreten (60). Galeoni fand außerdem, daß die DPN-Werte sehr rasch, d. h. innerhalb 48 Std., oft noch ehe klinische Zeichen einer Besserung der Herzfunktion erkennbar sind, durch Gaben von Digitaloiden auf die Norm ansteigen. Die Wirkungsweise der Digitaloide ist noch nicht restlos geklärt. Viele Versuchsergebnisse weisen aber darauf hin, daß ein großer Teil ihrer Wirkung in der Aktivierung des Myocardstoffwechsels liegen mag (73). Jedenfalls liegt Ihre Wirkung nicht, wie Govier vermutete, in einer direkten Hemmung der DPNase, was Spaulding und Graham (74) wiederlegen konnten.

Unsere Patienten waren schon geraume Zeit mit Strophanthin bzw. Digitalis behandelt worden, so daß ein erniedrigter DPN-Spiegel im Blut nicht zu erwarten war.

Die Patienten mit entzündlichen Erkrankungen (Nr. 3, 4, 5, 6, 7, 8) zeigten keine auffallend hohen oder tiefen Werte; lediglich ein Patient mit Bronchiektasen und chronisch-rezidivierenden Bronchopneumonien zeigte Werte an der unteren Grenze der Norm. Vilter und Mitarbeiter (75) hatten bei 17 von 20 untersuchten Patienten mit Pneumokokkenpneumonien einen auffallenden Rückgang der Co I und Co II festgestellt. Auch Kerppola und Pättälä (76) fanden bei 4 Fällen mit Bronchopneumonie etwas erniedrigte Werte. Es ist bekannt, daß eine Pneumonie bei unterernährten Personen den Ausbruch einer akuten Pellagra, die ja eine Nikotinsäuremangelkrankheit ist, auslösen kann (77).

Von 4 Patienten mit malignen Tumoren (Nr. 9, 10, 11, 12) fanden wir bei zweien normale Werte; bei den anderen beiden jeweils unseren höchsten (55 gamma DPN/ml Ery) und unseren tiefsten (22,6 gamma DPN/ml Ery) Wert in dieser Versuchsreihe. Es ist bekannt, daß in Tumorzellhomogenaten selbst der DPN-Gehalt erniedrigt ist (55, 56, 78, 79). Aus vielen Beobachtungen glaubte man sogar schließen zu müssen, daß eine Störung der DPN-abhängigen Enzymsysteme eine bezeichnende Erscheinung im Stoffwechsel von Tumorgewebe sei (78, 79, 59). So können z. B. die oxydativen Prozesse im Zitronensäurecyclus in Tumorphomogenaten durch Mangel an DPN nicht ablaufen. Die Oxydation von Pyruvat in den Mitochondrien neoplastischen Gewebes geschieht nur nach Zugabe von ziemlich hoch konzentriertem DPN. Dieser DPN-Bedarf kann durch keine anderen der bekannten Coenzyme oder Adennukleotide ersetzt werden. Die Oxydationen verlaufen dann qualitativ ähnlich denen nicht neoplastischen Gewebes (5,80). Emmelot und Brom-

bacher (81) haben als Ursache eine stark erhöhte DPNase-Aktivität in den Tumormitochondrien gefunden.

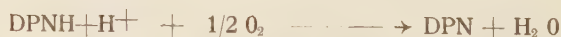
Unser Patient mit dem Hypopharynx-Ca und dem niedrigen DPN-Wert hatte in den letzten Tagen vor der Untersuchung mehrere Bluttransfusionen bekommen. Es ist zu erwarten, daß im Konservenblut, wenn auch in unbekanntem Ausmaß, die Enzyme der Erythrozyten teilweise zerstört sind. So ist es erklärlich, daß bei normalem Hämokrit kein genügend hoher DPN-Gehalt pro ml Erythrozyten gefunden werden konnte. Auch die Werte, die Kerppola und Pättiälä (76) bei Carcinompatienten fanden, sind im Bereich der Norm bzw. leicht erniedrigt. Eine den DPN-Werten im Tumorgebilde entsprechende Änderung findet in den Erythrozyten nicht statt.

Von 5 Patienten mit Lebererkrankungen (Nr. 13, 14, 15, 16, 17) zeigten 4 Patienten DPN-Werte im Bereich der Norm, einer leicht erniedrigte Werte.

In der verfetteten Leber selbst wurden von Frunder (51) und Dianzani (50) an Mäusen und Ratten erniedrigte Werte für DPN gefunden, vor allem in den Mitochondrien. Dianzani nimmt eine Permeabilitäts-erhöhung für lösliche Substanzen durch osmotische Schädigung der auch morphologisch stark veränderten Mitochondrien in der Fettleber an. Das DPN diffundiert in das umgebene Cytoplasma, wo es in erhöhter Konzentration gefunden wird, wo aber auch die DPNase-Aktivität viel größer ist und somit der DPN-Abbau. Der DPN-Abfall findet in der Leber schon statt, wenn die Anhäufung der Lipoide in der Leberzelle noch nicht bemerkbar ist. Sie ist wahrscheinlich erst die Folge der durch den Mangel gestörten DPN-gekoppelten Reaktionen im Fettstoffwechsel, wie z. B. der Oxydation von β -oxybutyrat $\rightarrow$ Acetoacetat. Diese Veränderungen scheinen aber auch nur auf die Leberzelle beschränkt zu sein, so daß im Blut kein nennenswerter Abfall des Coenzym auftritt.

Nach den Berichten von Green (80) und Lynen und Ochoa (82) wird auch im Verlauf der Fettsynthese bei der Hydrierung der -keto- zu den β -oxysäureestern das DPN-gebundene Enzym β -ketoreduktase gebraucht. Bei unserem Fall (Nr. 18) von allgemeiner Fettsucht wurde kein auffälliger DPN-Wert im Blut gefunden.

Auch bei einer Patientin mit Myxödem (Nr. 19) mit einer Grundumsatzminderung von -23% waren die DPN-Werte normal. Aus den Untersuchungen von Martins (83) und Park (84) weiß man, daß Thyroxin die Atmungskettenphosphorylierung entkoppelt. Dies ist eine mit Phosphorylierungsprozessen, nämlich der Synthese von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat, verknüpfte Wasserstoffübertragung auf Sauerstoff nach folgender Formel:



Beim Basedow führt diese Entkoppelung zur verringerten ATP-Synthese

andererseits zu erhöhter Wärmebildung, da die Verbrennungsenergie nicht in chemische ATP-Energie übergeführt wird.

Auch in unserem Fall von Myxödem, wie in den von Kerppola untersuchten Fällen von Thyreotoxikose, spiegelt sich die Stoffwechselstörung im DPN-Gehalt des Blutes nicht wieder.

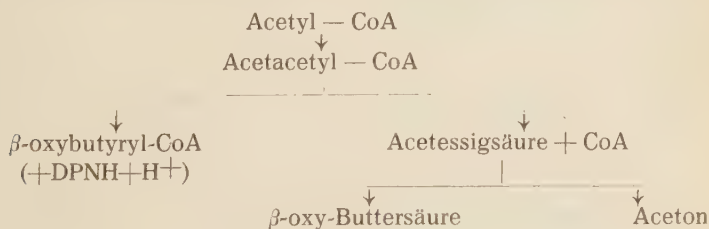
Ebenso zeigten zwei weitere Patienten, einer mit einer Erb'schen Muskeldystrophie und einer mit einem Hypertonus von 190/100 keine Besonderheiten in ihrem Blut-DPN-Wert.

Zwei Fälle von Polycythämie zeigten im Vollblut erhöhte Werte; auf den ml Erythrozyten umgerechnet lagen sie, wie verständlich, im Bereich der Norm.

Zwei von drei Fällen mit chronischer Myelose zeigten stark erhöhte Werte, vor allem pro ml Zellen; beim dritten lagen sie im Bereich der Norm. Die Ursache der hohen Werte ist der viel höhere Enzymgehalt der weißen Blutzellen, die in diesem Fall einen beträchtlichen Teil des Zellvolumens ausmachen. Engelhardt-Gölkel et alii (85) fanden in den Leukozyten normaler Personen eine 32 mal höhere MDH-Aktivität als in den Erythrozyten. Der Enzymgehalt pro Raumeinheit Leukozyten war bei Leukämikern im Vergleich zu Normalpersonen jedoch erniedrigt.

Die Untersuchungen an Diabetikern haben einen normalen DPN-Spiegel im Blut ergeben. Es zeigten sich bei mehreren Untersuchungen an verschiedenen Tagen Schwankungen, die jedoch mit der Höhe des Blutzuckerspiegels nicht in Zusammenhang stehen. Im allgemeinen bewegen sich die Werte im Bereich der Norm. Selbst bei einer Patientin, die zunächst im hypoglykämischen Schock und einige Tage später im diabetischen Koma mit Acetonurie und über 400 mg % Blutzucker untersucht wurde, konnte keine auffallende Änderung gefunden werden.

Im Gegensatz zum Blut besteht in der Leber beim Diabetes ein niedriger DPN- und DPNH-Spiegel; dies ist die Folge einer Störung der Glukoseverwertung, die durch den Insulinmangel bei der Hexokinase oder der Glukosepenetration einsetzt. Die $\text{DPNH} + \text{H}^+$ - Anlieferung bei der Triosephosphatdehydrierung muß verringert sein, wenn weniger Glukose verwertet wird. Als Folge der verringerten $\text{DPNH} + \text{H}^+$ - Konzentration erklärt sich auch die gesteigerte Ketonkörperbildung, deren Zusammenhang mit der Glukoseverwertungsstörung bisher nicht verständlich war.



In dieser Gleichung ist die für dieses Phänomen entscheidende Reaktionsfolge wiedergegeben. Sinkt die $\text{DPNH} + \text{H}^+$ — Konzentration, so sinkt die Geschwindigkeit der Acet-acetyl-CoA-Hydrierung, die von dem Ferment der Ketohydrase katalysiert wird. Dadurch muß sich Acet-acetyl-CoA aufstauen und die hieraus acetessigsäurebildende Deacylase wird mit erhöhter Geschwindigkeit arbeiten. Aus der vermehrt angelieferten Acetessigsäure werden dann β -oxy-Buttersäure und Aceton gebildet, und es kommt zu der für den Diabetiker charakteristischen Ketonämie und Ketonurie. Auf ähnliche Weise läßt sich die Feststellung von Hotta und Chaikoff erklären, wonach die Diabetikerleber aus Acetat zwar vermindert Fettsäuren aber vermehrt Cholesterin bildet.

Diese wichtige Rolle in den verschiedenen Umsetzungsprozessen spielt das DPN nur im zentralen Stoffwechselorgan, in der Leber.

Im Blut finden solche Prozesse nicht statt. Hier ist das DPN zum allergrößten Teil in den Erythrozyten konzentriert. Diese kernlosen Zellen sind nicht mehr fähig, selbst Enzyme zu synthetisieren (86). Sie besitzen nur kümmerliche Reste an Mitochondrien, in denen ausgedehnte oxydative Prozesse stattfinden, und die dadurch die höchste Konzentration an Enzymen besitzen. Der DPN-Gehalt der Erythrozyten ist der niedrigste von allen Geweben. Sie haben einen äußerst trägen Stoffwechsel, haben nicht die Fähigkeit zur Atmung, sondern beziehen ihre Energie aus der Glykolyse. Außerdem enthalten sie eine äußerst aktive DPNase, die das Ferment in den intakten Zellen langsam, rasch dagegen in hämolysierten Erythrozyten spaltet.

Aus diesen Tatsachen ist die Konstanz ihres DPN-Gehaltes auch bei schweren Stoffwechselstörungen zu erklären. Lediglich bei ernsten Nikotinsäuremangelzuständen, bei der Pellagra, spiegelt sich der Enzymmangel auch im DPN-Gehalt des Blutes wider. Ebenso beruhen wohl die von Rossini (87) und Kerppola (76) bei Tuberkulösen gefundenen erniedrigten Werte auf einem Mangel des wichtigen Bausteines Nikotinsäure. Es ist bekannt, daß die Nikotinsäurekonzentration in den Tuberkelbakterien sehr hoch ist; inwiefern hier quantitative Zusammenhänge bestehen, wodurch der Organismus in eine Niacinmangelsituation kommen könnte, ist nicht bekannt. Jedenfalls beruht auf der Bildung einer biologisch inaktiven Komponente des chemisch mit Niacin (Nikotinsäure) verwandten Isoniacids die tuberkulostatische Wirkung dieser Präparate (Rimifon) (88).

Zusammenfassung

- 1) Ein kurzer Abriß über die bereits bekannten Tatsachen des DPN-Stoffwechsels wird gegeben. Allgemeine Vorbemerkungen zur Problemstellung.
- 2) Eine photometrische Methode zur Bestimmung von DPN, Untersuchungsbedingungen und Material werden geschildert.
- 3) Es zeigt sich, daß nur in sehr wenigen Fällen eine Änderung des DPN-Gehaltes im Blut auftritt.
- 4) Bei den Diabetikern besteht keine Korrelation zwischen dem tierexperimentell gefundenen DPN-Abfall in der Leber und dem DPN-Gehalt im Blut.
- 5) Eine Erklärung der Stabilität des DPN-Gehaltes im Blut wird erörtert. Ein deutlicher DPN-Abfall in den Erythrozyten scheint nur bei schweren Nikotinsäuremangelzuständen aufzutreten.

Literaturverzeichnis

- 1 Todd, Alexander
Science 127, 787 — 792 (1958)
- 2 Preiss J., Handler P.
J. Biol. Chem. 225, 759 (1957)
- 3 Kornberg A.
J. Biol. Chem. 182, 779 (1950)
- 4 Burton R. M., Kaplan N. O., Goldin A., Leitenberg M.
Humphreys S. R., Sodd M. A.
Science 127, 30 — 32 (1958)
- 5 Hogeboom G. H., Schneider W. C.
J. Biol. Chem. 197, 611 — 620 (1952)
- 6 Branster M. J., Morton R. K.
Biochem. J. 63, 640 (1956)
- 7 Baltus E.
Biochim. et Biophysica acta 15, 263 (1954)
- 8 Jacobson B., Kaplan N. O.
J. Biol. Chem. 226, 603 — 613 (1957)
- 9 Strength D. R., Mondy N. I., Daniel L. J.
Arch. of Biochem. and Biophys. 48, 141 — 148 (1954)
- 10 Jan van Eys, F. E. Stolzenbach, L. Sherwood, N. O. Kaplan
Biochim. et Biophysica acta 27, 63 — 83 (1958)
- 11 Jan van Eys, M. M. Ciotti, N. O. Kaplan
J. Biol. Chem. 231, 571 — 582 (1958)
- 12 Hoch F. L., Vallee B. L.
J. Biol. Chem. 221, 491 (1956)
- 13 J. v. Eys, Ciotti M. M., Kaplan N. O.
Biochim. et Biophys. acta 23, 581 (1957)
- 14 Hayes J. E. Jr., Velick S. F.
J. Biol. Chem. 207, 225 (1954)
- 15 Wallenfels K., Sund H.
Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmakologie 232, 338 (1957)
- 16 Wolff J., Wolff E. C.
Biochimic. et Biophys. acta 26, 387 — 396 (1957)

- 17 Emmelot P., Bos C. J.
Experimental Cell Research 14, 132 — 141 (1958)
- 18 Pullmann M. E., San Pietro A., Colowick S. P.
J. Biol. Chem. 206, 177 (1954)
- 19 Lang K.
Der intermediäre Stoffwechsel, Springer-Verlag 1952, p. 29
- 20 Racker E.
Physiological Reviews 35, 1 — 56 (1955)
- 21 Wieland Th., Pfeleiderer G.
Angewandte Chemie 69, 199 (1957)
- 22 Wieland Th., Pfeleiderer G., Ortanderl F.
Biochem. Z. 331, 103 — 109 (1959)
- 23 Lang K.
Der intermediäre Stoffwechsel, Springer-Verlag, 134 — 136
- 24 Sweat M. L., Samuels L. T.
J. Biol. Chem. 173, 433 — 434 (1948)
- 25 Sweat M. L., Samuels L. T., Lumry R.
J. Biol. Chem. 185, 75 (1950)
- 26 Coppedge R. L., Segaloff A., Sarett H. P., Altschul A. M.
J. Biol. Chem. 173, 431 (1948) und
J. Biol. Chem. 182, 181 (1950)
- 27 Hiller J.
Zschr. f. ges. exper. Medizin 126, 244 — 48 (1955)
- 28 Hunter F. E.
Phosphorus Metabolism, Vol. I, p. 344
- 29 Feigelson P., Williams jr. J. N., Elvehjem C. A.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 78, 34 — 36 (1951)
- 30 Feigelson P., Williams jr. J. K., Elvehjem C. A.
J. Biol. Chem. 193, 737 (1951)
- 31 Fisher H., Scott H. M., Johnson B. C.
Arch. of Biochem. and Biophys. 56, May 1955
- 32 Duncan M., Sarett H. D.
J. Biol. Chem. 193, 317 — 324 (1951)
- 33 Holzer H. in
Ergebnisse der medizinischen Grundlagenforschung
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1956, p. 191 — 212
- 34 Holman W. I. M., Lange D. J.
Biochem. Journal 45, 559 — 563 (1949)

- 35 Hofmann E. C. G., Rapoport S.
Biochim. et Biophys. acta 18, 296 (1955)
- 36 Mann P. J. G., Quastel J. H.
Biochem. J. 35, 502 — 527 (1941)
- 37 Handler P., Klein J. R.
J. Biol. Chem. 143, 49 (1952)
- 38 Hofmann E. C. G.,
Biochem. Z. 329, 428 — 436 (1957)
- 39 Kornberg A., Lindberg O.
J. Biol. Chem. 176, 655 (1948)
- 40 Terner C.
Biochem. J. 52, 229 (1952)
- 41 Kaplan N. O., Colowick S. P., Nasow A.
J. Biol. Chem. 191, 473 (1951)
- 42 Zatman L. J., Kaplan N. O., Colowick S. P.
J. Biol. Chem. 200, 197 (1953)
- 43 Bevilacqua L. R.
Atti accad. nazl. Linzei Rend. Classe sci. fis.
mat. e nat. 16, 107 (1954)
- 44 Roberts D. W. A.
J. Biol. Chem. 234, 655 — 657 (1959)
- 45 Sung S. C., Williams jr. J. N.
J. Biol. Chem. 197, 175 — 79 (1952)
- 46 Alivisatos S. G. A., Denstedt O. F.
Science 114, 281 — 283 (1951)
- 47 Aravindakshan I. Beatriz Braganca
Biochim. et Biophys. acta 31, 463 — 66 (1959)
- 48 Prosiegel R.
Zschr. f. d. ges. exper. Medizin 125, 323 — 30 (1955)
- 49 O. Warburg, Christian W.
zit. nach Hill B. R., Levi C.
Cancer Research 14, 513 — 515 (1954)
- 50 Dianzani M. V.
Biochim. et Biophys. acta 17, 391 — 405 (1955)
- 51 Frunder H.
Hoppe-Seyler's Zschr. 297, 267 — 77 (1954)

- 52 Holzer H., Goldschmidt St., Lamprecht W., Helmreich E.
Hoppe-Seyler's Zschr. 297, 1 (1954)
- 53 Greenbaum A. L., Graymore C. N.
Biochemical J. 63, 163 — 167 (1956)
- 54 Glock G. E., Mc Lean P.
Biochemical J. 61, 397 — 402 (1955)
- 55 Bernheim F., A. v. Felsonvanyi
Science 91, 76 (1940)
- 56 Kensler C. J., Sugiura K., Rhoads C. P.
Science 91, 623 (1940)
- 57 Jedeikin L. A., Weinhouse S.
J. Biol. Chem. 213, 271 — 280 (1955)
- 58 Oide H.
Gann, The Japanese J. of Cancer Research 49, 49 — 55 (1958)
- 59 Morton R. K.
Nature 181, 540 — 542 (1958)
- 60 Govier W. M.
Am. Heart J. 29, 384 — 389 (1945)
- 61 Duspiva F., Franken F. H.
Beitr. zur path. Anat. und allgem. Pathol. 118, 38 — 51 (1957)
- 62 Galeoni A., Levi E., Segre G.
Acta Medica Scandinavica 39, 308 — 318 (1951)
- 63 Wenner C. E., Weinhouse S.
Cancer Research 13, 21 — 26 (1953)
- 64 Levitas N., Robinson J., Rosen F., Perlzweig W. A.
J. Biol. Chem. 167, 169 — 175 (1947)
- 65 Frunder H., Richter G.
Hoppe Seyler Z. 302, 1 — 9 (1955)
- 66 Warburg O., Christian W.
Biochem. Zschr. 287, 291 (1936)
- 67 Marley N. H., Storvick C. H.
J. of Nutrition 63, 539 — 554 (1957)
- 68 Vilter S. P., Kohn M. B., Spies T. D.
J. of Lab. and Clin. Med. 26, 31 — 44 (1940)
- 69 Kohn, Bernheim F., A. v. Felsonvanyi
J. Clin. Investig. 18, 115 (1942)

- 70 Hoagland C. L., Ward S. M.
J. Biol. Chem. 146, 115 (1942)
- 71 Schlenk F. A.
Symposium of Respiratory Enzymes, Medison (1942) p. 105
- 72 Glock G. E., Mc Lean
Biochem. J. 61, 388 — 390 (1955)
- 73 Wollenberger A.
Amer. J. of Physiology 150, 733 (1947)
- 74 Spaulding M. E., Graham N. D.
J. Biol. Chem. 170, 711 (1947)
- 75 Vilter R. W., Bean W. B., Rueggsegger J. M., Spies T. D.
J. Lab. an Clin. Med. 25, 897 — 899 (1940)
- 76 Kerppola W., Pätälä J.
Annales medicinae experimentales et biologiae
Fenniae. Supplementum. 32 (7) (1954)
- 77 Spies T. D.
Pellagra. Cecil's Textbook of Medicine Ed 4
Philadelphia W-B- Saunders Co. (1937)
- 78 Carruthers C., Suntzeff V.
Cancer Research 14, 29 — 33 (1954)
- 79 Jedeikin L. A., Weinhouse S.
Abstr. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2, 26 (1955)
- 80 Green
Biolog. Reviews 29, 330 (1954)
- 81 Emmelot P., Brombacher P. J.
Biochim. et Biophys. acta 21, 581 — 588 (1951)
- 82 Lynen F., Ochoa S.
Biochim. et Biophys. acta 12, 486 (1951)
- 83 Martius C., Hess B.
Archives of Biochem. 33, 486 (1951)
- 84 Park H. J., Meriwether B. P., Park C. R.
Biochim. et Biophysic. acta 28, 662 — 663 (1958)
- 85 Englhardt-Gölkel A., Ehrhardt H., Seif W., Woller I.
Klin. Wochenschr. 36, 376 — 380 (1958)
- 86 Vilter S., Vilter R. W., Spies T. P.
Nature 144, 943 (1939)
- 87 Rossini G.
Acta Vitaminologica 6, 243 (1949)
- 88 Pätälä J.
Amer. Review of Tuberculosis 70, 453 — 464 (1954)

Herrn Prof. Dr. W. Seitz danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik die Arbeit durchführen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. K. Stuhlfauth danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Lebenslauf

Am 5. März 1932 wurde ich als Tochter des Arztes Demetrios Chalkiadakis und seiner Ehefrau Marianne, geb. Tomys, in Rethymno Kreta, Griechenland geboren.

1937 — 1941 besuchte ich dort die Privatschule Amalia Zannidaki; 1941 — 1943 das Gymnasium in Rethymno. 1943 siedelten wir nach Deutschland über. Hier besuchte ich zunächst die Volksschule in Eden bei Berlin, 1944 die Deutsche Hauptschule in Bolkenhain, Kr. Jauer und die Städtische Oberschule in Striegau, Kr. Schweidnitz, Schlesien. 1945 nach der Flucht aus Schlesien hatte ich Privatunterricht in Marienbad. Am 18. Sept. 1946 trat ich in die Mädchenoberrealschule in Garmisch-Partenkirchen ein und machte dort im Sommer 1950 das Abitur.

Im Herbst 1950 begann ich mein Medizinstudium an der Universität Zürich, wo ich nach dem Sommersemester 1951 das Vorphysikum ablegte. Seit dem Wintersemester 1951/52 studierte ich an der Universität München. Im Frühling 1953 legte ich das Physikum ab, im Frühjahr 1956 das medizinische Staatsexamen.

Vom 1. 12. 56 — 31. 3. 57 war ich an der Universitäts-HNO-Klinik, vom 1. 4. — 31. 8. 57 an der Universitäts-Haut-Klinik, vom 1. 9. — 30. 11. 57 an der Universitäts-Augen-Klinik, vom 1. 12. 57 — 30. 11. 58 an der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses r. d. Isar und vom 1. 12. 58 — 10. 4. 59 an der II. Universitäts-Frauenklinik als Medizinalassistentin tätig. Am 24. 4. 59 heiratete ich den Assistenzarzt Dr. Manfred Weigert. Seit dem 2. 9. 59 bin ich wieder als Medizinalassistentin an der II. Med. Abteilung des Krankenhauses am Biederstein tätig.

